

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. April 2001 (05.04.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/22954 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/09390

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. September 2000 (26.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 46 301.8 28. September 1999 (28.09.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **ASTA MEDICA AG** [DE/DE]; An der Pikardie 10,
01277 Dresden (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **NICKEL, Bernd**
[DE/DE]; Alleestrasse 35, 64367 Mühlthal (DE). **KLEN-**
NER, Thomas [DE/DE]; Im Kannengiesser 4, 55218
Ingelheim (DE). **BACHER, Gerald** [DE/DE]; Sophien-
strasse 7, 69115 Heidelberg (DE). **BECKERS, Thomas**
[DE/DE]; Passavantstrasse 26, 60596 Frankfurt (DE).

EMIG, Peter [DE/DE]; Ludwig-Erhard-Strasse 22, 63486
Bruchköbel (DE). **ENGEL, Jürgen** [DE/DE]; Erlenweg
3, 63755 Alzenau (DE). **BRUYNEEL, Erik** [BE/BE];
Groeningestraat 51, B-8530 Harelbeke (BE). **KAMP,**
Günter [DE/DE]; Rottendorffweg 45, 48149 Münster
(DE). **PETERS, Kirsten** [DE/DE]; Am Heckerpfad 3,
55128 Mainz (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AU, BG, BR, BY, CA,
CN, CZ, DZ, EE, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KR,
KZ, LT, LV, MK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK,
TR, UA, US, UZ, YU, ZA.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): eurasisches Patent (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE).

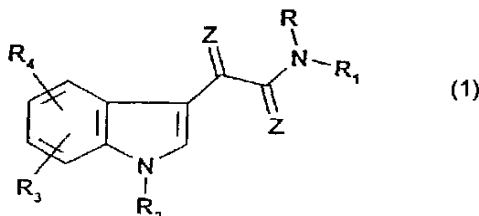
Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: **INDOLYL-3-GLYOXYLIC ACID DERIVATIVES COMPRISING THERAPEUTICALLY VALUABLE PROPERTIES**

(54) Bezeichnung: **INDOLYL-3-GLYOXYLSÄURE-DERIVATE MIT THERAPEUTISCH WERTVOLLEN EIGENSCHAFTEN**



(57) Abstract: The invention relates to the use of N-substituted indol-3- glyoxylamides of general formula 1 for treating tumors, in particular, in cases of drug resistance and metastatic carcinoma, and as angiogenesis inhibitors having distinctly fewer side effects, in particular, distinctly lower neurotoxicity. The invention also relates to medicaments containing the inventive compounds.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von N-substituierten Indol-3-gloxylamiden der allgemeinen Formel 1 zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastasierendem Karzinom, sowie als Angiogenesehemmer, bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringerer Neurotoxizität, sowie diese enthaltende Arzneimittel.

Indolyl-3-glyoxylsäure-Derivate mit therapeutisch wertvollen Eigenschaften

5 Die Erfindung betrifft die weitere vorteilhafte Ausgestaltung der deutschen Patentanmeldung Indol-3-glyoxylamide mit dem Aktenzeichen 19814 838.0.

Im Zusammenhang mit der Chemotherapie bei Tumorerkrankungen ergeben sich die größten Probleme durch das Auftreten der Arzneimittel-Resistenz zum einen und durch die schwerwiegenden Nebenwirkungen dieser Mittel zum anderen.

10 Ferner ist es bekannt, daß viele Primärtumore nach Erreichen einer gewissen Größe frühzeitig über Blut- und Lymphbahnen zur Metastasenbildung neigen. Der fortschreitende Prozeß von Tumorinvasion und die Bildung von Metastasen ist die häufigste Todesursache der Krebspatienten.

Für die Erklärung dieser Ausbreitung gibt es verschiedene Ansatzpunkte u.a.
15 verstärkte Angiogenese, erhöhter extrazellulärer Matrixabbau, Tumorzellmigration und Modulation der Zelladhäsion. Diese Faktoren können auch zusammenwirken sind aber bis heute nur partiell aufgeklärt.

Die Metastasierung eines Tumors ist meistens durch schlechte Prognosen bei der Tumorbehandlung begleitet. Voraussetzung der Metastasierung ist die Loslösung
20 von Zellen aus dem primären Tumor, die Wanderung der Zellen zu den Blutgefäßen, die Invasion in die Blutgefäße und die Invasion der Zellen aus den Blutgefäßen in andere Gewebe.

Von bestimmten Tumormitteln wie Tamoxifen ist eine Hemmwirkung auf die Migration und Invasion von Krebszellen bekannt [J Clin Endocrinol Metab 1995
25 Jan;80(1):308-13]

Über die Hemmung der Tumorzellinvasion durch Verapamil wurde berichtet [Pigment Cell Res 1991 Dec;4(5-6):225-33.]

Der Einfluß von Melantonin auf invasive und metastatische Eigenschaften von MCF-7 menschlichen Brustkrebszellen wurde berichtet [Cancer res 1998
30 Oct1;58(19):4383-90]

In der veröffentlichten PCT Anmeldung WO 96/23506 wurde die Überwindung der Arzneimittel-Resistenz bei gewissen Tumorpharmaka als Folge der durch

solche Tumormittel bewirkten Genamplifikation des Multi- Drug - Resistance Gens (MDR-Gen) nachgewiesen.

Tumormittel wie Vincristin und Taxol weisen ferner eine nicht unerhebliche Neurotoxizität auf, die sich bei der Chemotherapie als nachteilig erweist.

5

Aufgabe der Erfindung ist es nun, den Einsatzbereich von N -substituierte Indol-3-glyoxylamide zu erweitern und somit den verfügbaren Arzneischatz zu bereichern.

10 Damit soll die Möglichkeit einer niedrigeren, länger anhaltenden und besser verträglichen Medikation für die in der deutschen Patentanmeldung 19814 838.0. beschriebene Stoffklasse mit Antitumorwirkung eröffnet werden. Insbesondere soll die nachteilige Resistenzentwicklung, wie sie von vielen Antitumormitteln bekannt ist, umgangen werden.

15 Außerdem soll einer Entwicklung und Ausbreitung des Tumors durch Metastasen entgegengewirkt werden.

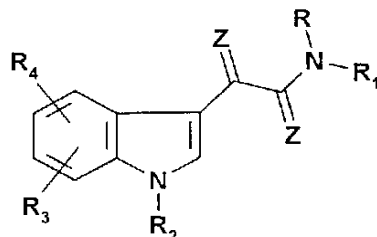
Da nach neueren Erkenntnissen für das Tumorwachstum und die Entwicklung von Metastasen offenbar auch die Angiogenese verantwortlich ist, stellt die Eigenschaft der Angiogenesehemmung einen weiteres vorteilhaftes Arzneimittelpotential zum Beispiel in der Krebstherapie dar.

20 Die mit den N -substituierten Indol-3-glyoxylamiden erzielte Wirkungsverstärkung soll den Arzneimittelverbrauch in der Tumorthherapie effektiver gestalten. Darüber hinaus sollte es möglich sein, die Behandlungsdauer zu verkürzen und auf therapieresistente Fälle auszudehnen. Ferner sollen Rezidive und Metastasen eingeschränkt bzw. verhindert und somit die Überlebensdauer der Patienten
25 zusätzlich erhöht werden. Ziel ist es, Medikamente zu entwickeln, die in den Metastasierungsprozeß eingreifen können.

Es wurde überraschend gefunden, daß die in der deutschen Patentanmeldung 19814 838.0 beschriebenen N -substituierten Indol-3-glyoxylamide der nachfolgend
30 angegebenen allgemeinen Formel 1, die zur Behandlung von Tumorerkrankungen

geeignet sind, weitere für die Tumorbehandlung solche vorteilhaften Eigenschaften besitzen, die ihr Einsatzgebiet erweitern können.

Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von N-substituierten Indol-3-gloxylamiden gemäß Anspruch 1 allgemeine Formel 1a zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom und zur Unterdrückung der Metastasenbildung, sowie als Angiogenesehemmer,



Formel 1

wobei die Reste R, R₁, R₂, R₃, R₄ und Z folgende Bedeutung haben:

R= Wasserstoff, (C₁-C₆)-Alkyl, wobei die Alkylgruppe ein- oder mehrfach durch den

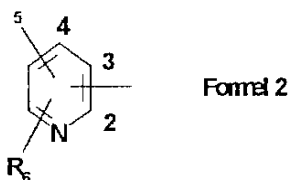
Phenylring substituiert sein kann und dieser Phenylring seinerseits ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, durch Carboxylgruppen, mit C₁-C₆-Alkanolen veresterte Carboxylgruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Methoxygruppen, Ethoxygruppen, Benzyloxygruppen sowie durch eine im Phenylteil ein- oder mehrfach mit (C₁-C₆)-Alkylgruppen, Halogenatomen oder Trifluormethylgruppen substituierte Benzylgruppe substituiert sein kann,

R steht ferner für die Benzyloxycarbonyl-Gruppe (Z-Gruppe) und für den tertiär-Butoxycarbonylrest (Boc-Rest), weiterhin für die Acetylgruppe.

R₁ kann den Phenylring, der ein- oder mehrfach mit (C₁-C₆)-Alkyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Cyano, Halogen, Trifluormethyl, Hydroxy, Benzyloxy, Nitro, Amino, (C₁-C₆)-Alkylamino, (C₁-C₆)-Alkoxycarbonylamino und mit der

Carboxylgruppe bzw. mit der mit C_1 - C_6 - Alkanolen veresterten Carboxylgruppe substituiert ist, oder ein Pyridin-Gerüst der Formel 2 und deren N-Oxid

5



10

bedeuten und dessen N-Oxid, wobei das Pyridin-Gerüst wahlweise an den Ringkohlenstoff Atomen 2, 3 und 4 gebunden ist und mit den Substituenten R_5 und R_6 substituiert sein kann. Die Reste R_5 und R_6 können gleich oder verschieden sein und die Bedeutung $(C_1 - C_6)$ -Alkyl sowie die Bedeutung $(C_3 - C_7)$ -Cycloalkyl, $(C_1 - C_6)$ -Alkoxy, Nitro, Amino, Hydroxy, Halogen und Trifluormethyl besitzen und ferner den Ethoxycarbonylamino-Rest sowie die Gruppe Carboxyalkyloxy darstellen, bei dem die Alkylgruppe über 1-4 C-Atome verfügen kann.

15

R_1 kann ferner ein 2-bzw. 4-Pyrimidinyl-Heterocyclus sein, wobei der 2-Pyrimidinyl-Ring ein- oder mehrfach mit der Methylgruppe substituiert sein kann, weiterhin das mit $(C_1 - C_6)$ -Alkyl, Halogen, der Nitrogruppe, der Aminogruppe und dem $(C_1 - C_6)$ -Alkyl-amino-Rest substituierte 2-,3-, und 4- und 8-Chinolylderüst bedeuten, eine 2-,3- und 4-Chinolylmethylgruppe darstellen, wobei die Ringkohlenstoffe des Pyridylmethylrestes der Chinolylderüst und des Chinolylmethyl-Restes mit $(C_1 - C_6)$ -Alkyl, $(C_1 - C_6)$ -Alkoxy, Nitro, Amino und $(C_1 - C_6)$ -Alkoxycarbonylamino substituiert sein können.

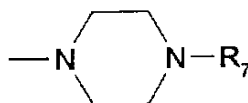
25

R₁ kann weiterhin für den Fall, daß R = Wasserstoff, die Methyl -oder Benzylgruppe sowie den Benzyloxycarbonyl-Rest (Z-Rest), den tert.-Butoxycarbonyl-Rest (BOC-Rest) und die Acetylgruppe darstellt, die folgenden Reste bedeuten:

5 -CH₂COOH; -CH(CH₃)-COOH; -(CH₃)₂-CH-(CH₂)₂-CH-COO-; H₃C-H₂C-CH(CH₃)-CH(COOH)-; HO-H₂C-CH(COOH)-; Phenyl-CH₂-CH(COOH)-; (4-Imidazolyl)-CH₂-CH-(COOH)-; HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(COOH)-; H₂N-(CH₂)₄-CH(COOH)-; H₂N-CO-CH₂-CH-(COOH)-; HOOC-(CH₂)₂-CH(COOH)-;

10 R₁ kann weiterhin für den Fall, daß R Wasserstoff, die Z-Gruppe, den BOC-Rest, die Acetyl- oder die Benzylgruppe bedeuten, der Säurerest einer natürlichen oder unnatürlichen Aminosäure sein, z.B. den α-Glycyl-, den α-Sarkosyl-, den α-Alanyl-, den α-Leucyl-, den α-iso-Leucyl-, den α-Seryl-, den α-Phenylalanyl-, den α-Histidyl-, den α-Prolyl-, den α-Arginyl-, den α-Lysyl-, den α-Asparagyl- und den α-Glutamyl-Rest darstellen, wobei die
15 Aminogruppen der jeweiligen Aminosäuren ungeschützt vorliegen oder geschützt sein können. Als Schutzgruppe der Aminofunktion kommen der Carbobenzoxy-Rest (Z-Rest) und der tert.-Butoxycarbonyl-Rest (BOC-Rest) sowie die Acetylgruppe in Frage. Im Fall des für R₁ beanspruchten Asparagyl- und Glutamylrestes liegt die zweite, nicht gebundene
20 Carboxylgruppe als freie Carboxylgruppe oder in Form eines Esters mit C₁ - C₆-Alkanolen, z.B. als Methyl-, Ethyl- bzw. als tert.- Butylester vor. Weiterhin kann R₁ die Allylaminocarbonyl-2-methyl-prop-1-yl-Gruppe bedeuten.

25 R und R₁ können ferner zusammen mit dem Stickstoff-Atom, an das sie gebunden sind, einen Piperazinring der Formel 3 oder einen Homopiperazinring bilden, sofern R₁ eine Aminoalkylengruppe darstellt, bei dem



Formel 3

R₇ einen Alkylrest darstellt, einen Phenylring bedeutet, der ein- oder mehrfach mit (C₁-C₆)-Alkyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Halogen, der Nitrogruppe, der Aminofunktion und mit der (C₁-C₆)-Alkylaminogruppe substituiert sein kann. R₇ bedeutet ferner die Benzhydryl-Gruppe und die Bis-p-fluorbenzylhydryl-Gruppe.

R₂ kann Wasserstoff und die (C₁-C₆)-Alkyl-Gruppe bedeuten, wobei die Alkylgruppe ein- oder mehrfach durch Halogen und Phenyl substituiert ist, das seinerseits ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, Carboxylgruppen mit C₁-C₆-Alkanolen veresterten Carboxylgruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Methoxygruppen, Ethoxygruppen oder Benzyloxygruppen

substituiert sein kann. Die für R₂ geltende (C₁-C₆)-Alkyl-Gruppe kann ferner durch die 2-Chinolygruppe und das 2-,3- und 4-Pyridyl-Gerüst substituiert sein, die beide

jeweils ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₄)-Alkylgruppen oder (C₁-C₄)-Alkoxy-gruppen substituiert sein können. R₂ steht ferner für den Aroyl-Rest, wobei der diesem Rest zugrunde liegende Arylteil den Phenylring darstellt, der ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, Carboxylgruppen mit C₁-C₆-Alkanolen veresterte Carboxylgruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Methoxygruppen, Ethoxygruppen oder Benzyloxygruppen substituiert sein kann.

R₃ und R₄ können gleich oder verschieden sein und Wasserstoff, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, (C₁-C₆)-Alkanoyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Halogen und Benzyloxy bedeuten. Weiterhin können R₃ und R₄ die Nitrogruppe, die Aminogruppe, die (C₁-C₄)-mono- oder dialkylsubstituierte Aminogruppe, und die (C₁-C₆)-Alkoxy-carbonylamino-Funktion oder (C₁-C₆)-Alkoxycarbonylamino-(C₁-C₆)-alkyl-Funktion bedeuten.

Z steht für O und S

- 5 Unter der Bezeichnung Alkyl-, Alkanol-, Alkoxy- oder Alkylaminogruppe sind für die Reste R, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇ regelmäßig sowohl „geradkettige“ als auch „verzweigte“ Alkylgruppen zu verstehen, wobei „geradkettige Alkylgruppen“ beispielsweise Reste wie Methyl, Ethyl, n-Propyl, n-Butyl, n-Pentyl, n-Hexyl bedeuten können und „verzweigte Alkylgruppen“ beispielsweise Reste wie
- 10 Isopropyl oder tert.-Butyl bezeichnen. Unter „Cycloalkyl“ sind Reste wie beispielsweise Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder Cycloheptyl zu verstehen.

- Die Bezeichnung „Halogen“ steht für Fluor, Chlor, Brom oder Jod. Die Bezeichnung „Alkoxygruppe“ stellt Reste wie beispielsweise Methoxy, Ethoxy, Propoxy, Butoxy,
- 15 Isopropoxy, Isobutoxy oder Pentoxy dar.

- Die Verbindungen können auch als Säureadditionssalze eingesetzt werden, beispielsweise als Salze von Mineralsäuren, wie beispielsweise Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salze von organischen Säuren, wie beispielsweise
- 20 Essigsäure, Milchsäure, Malonsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Gluconsäure, Glucuronsäure, Zitronensäure, Embonsäure, Methansulfonsäure, Trifluoressigsäure, Bernsteinsäure und 2-Hydroxy-ethansulfonsäure.

- Sowohl die Verbindungen der Formel I als auch deren Salze sind biologisch aktiv. Die Verbindungen der Formel 1 können in freier Form oder als Salze mit
- 25 physiologisch verträglichen Säuren verabreicht werden.

Die Applikation kann peroral, parenteral, intravenös, transdermal oder inhalativ vorgenommen werden.

- Weiterhin betrifft die Erfindung pharmazeutische Zubereitungen mit einem Gehalt an mindestens einer der Verbindungen der Formel 1 oder deren Salze mit
- 30 physiologisch verträglichen anorganischen oder organischen Säuren und gegebenenfalls pharmazeutisch verwendbaren Träger- und/oder Verdünnungs- bzw. Hilfsstoffen.

Als Applikationsformen eignen sich beispielsweise Tabletten, Dragees, Kapseln, Lösungen zur Infusion oder Ampullen, Suppositorien, Pflaster, inhalativ einsetzbare Pulver-zubereitungen, Suspensionen, Cremes und Salben.

Die Herstellungsverfahren für die Substanzen können den Beispielen aus dem Deutschen Patent DE 196 36 150 A1 entnommen werden.

10

Die gefundenen, therapeutisch wertvollen Eigenschaften, beziehen sich im einzelnen auf die nachfolgenden Vorteile:

- Es wurde keine Resistenzentwicklung nachgewiesen

15

- Es wurden Parameter nachgewiesen, die charakteristisch sind für die Hemmung der Metastasenbildung (Migration)

- Es wurden Parameter gefunden, welche die Hemmung der Gefäßneubildung belegen (Angiogenese)

20

- In verschiedenen Modellen konnte mit den N -substituierten Indol-3-gloxylamiden gemäß Anspruch 1 allgemeine Formel 1a im Gegensatz zu den meisten Antitumorpräparaten keine Neurotoxizität gefunden werden

25

Die nicht vorhandene Resistenzentwicklung wird an nachfolgenden pharmakologischen Modellen bzw. Zellkulturen bewiesen :

30

1. Die cytotoxische Aktivität von D-24851 (siehe Anspruch 4) auf die MDR (multidrug resistente) Leukämiezelllinie der Maus L 1210/VCR wird in vivo und in vitro nicht beeinflusst. Siehe Figur 1, 2 und 3.

D-24851(siehe Anspruch 4) hat eine ungeänderte zytotoxische Aktivität gegen die multidrug resistente Mäuseleukämiezell- Sublinie L1210/VCR im Gegensatz zu Taxol, Doxorubicin, Vincristin oder Epotholon B.

5

Versuchsdurchführung:

Die Mausleukämie Zelllinien L 1210 wurde adaptiert an Vincristin. Die nicht adaptierten (L1210) und die adaptierten (L1210/VCR) Zellen wurden zytostatischen Mitteln ausgesetzt und das Zellwachstum, welches durch die metabolische Aktivität bestimmt wurde, wurde bestimmt (XTT Test).

10

Die Kurven, welche die XTT Datenpunkte verbinden, wurden berechnet unter Verwendung eines nichtlinearen Regressionsprogrammes.

Diese Versuchsergebnisse bestätigten sich in vitro auch an der humanen resistenten LT12/MDR Zelllinie siehe Figur 4.

15

2. Der Nachweis einer fehlenden Metastasenbildung wurde erbracht über die Migrationshemmung von MO4 Zellen. Siehe Figur 5.

D-24 851(siehe Anspruch 4) hemmt dosisiabhängig die Migration von MO4 Zellen.

20

Daraus läßt sich für D-24851 eine antiinvasive und eine antimetastatische Wirkung ableiten.

In vitro kann die Migrationsfähigkeit von MO4 Zellen gemessen werden, indem Zellen in der Mitte einer Zellkulturschale ausgesäht werden und die Wanderung mittels Radius bzw. die abgedeckte Fläche der Zellen nach verschiedenen Tagen mit und ohne D-24851 bestimmt wird. Figur 4 zeigt , daß die Migration der Zellen mit steigender D-24851 Konzentration abnimmt.

25

Um zu testen, ob D-24851 auch antiinvasiv wirkt, wurde die Invasion von MO4 Fibrosarcomzellen in Hühnerherz untersucht. Auch hier zeigt sich, daß bei Konzentration von 260 und 1000 nM die Invasion vollständig gehemmt wird, während bei geringeren Konzentrationen, die Invasionsfähigkeit der MO4 Zellen zunimmt. Auf Grund dieser Befunde, zeigt sich, daß D-24851 sowohl die Migration

30

als auch die Invasion von Tumorzellen hemmt und dadurch ein starkes antimetastastisches Potential besitzt.

3. Aus Vergleichsversuchen der erfindungsgemäßen Verbindung D-24851 (siehe Anspruch 4) mit Vincristin und Taxol an Ratten, wobei Ataxie, Traktion und

Reaktion bewertet wurden (siehe Figur 6), geht hervor, daß diese Verbindung im Gegensatz zu Taxol und Vincristin keinen neurotoxischen Effekt zeigt.

- D-24851 hat ferner im Vergleich zu Taxol und Vincristin keinen negativen Einfluß auf die Nervenleitungsgeschwindigkeit siehe Figur 7.

Dies bestätigt, daß D- 24851 aufgrund der fehlenden Neurotoxizität über deutlich geringere Nebenwirkungen verfügt als andere Chemotherapeutika.

4. Aus weiteren Untersuchungen gem. Figur 8 und 9 ist ersichtlich, daß die Verbindung D-24851 (siehe Anspruch 4) über ein Potential als Angiogenesehemmer verfügt.

Angiogenesehemmstoffe sind infolge des physiologischen Zusammenhanges zum Tumorwachstum zugleich auch Mittel zur Hemmung des Tumorwachstums, indem die Bildung von neuen Blutgefäßen, welche den Tumor ernähren sollen, gehemmt wird.

D-24851 ruft in vitro in einem Antiangiogenese – Modell an Endothelzellen eine komplette Hemmung der Gefäßbildung hervor, die nicht auf einem zytotoxischen Effekt beruht.

- In Figur 8 ist zu sehen, daß D-24851 bestehende Zell-Zellkontakte durch 0,1 µMol/L D 24851 nahezu vollständig auflöst (siehe Vitalfärbung). Normalerweise halten die Zellen zumindest partiell Kontakt. Die Zellmigration ist deutlich reduziert, viele Zellen sind abgerundet.

- Die Letalfärbung im Monolayer vor Angiogenese-Induktion zeigte mit D-24851 keinen erhöhte Zellmortalität. Auch in den ersten 22 Stunden nach Induktion war im Vergleich zur Kontrolle noch keine erhöhte Zellmortalität erkennbar. (siehe Letalfärbung in Figur 9, weiße Punkte)

Die Zellen stammten aus humaner Nabelschnurvene (arterielle Funktion). Sie wurden in dritter und vierter Passage für die Untersuchung eingesetzt. Die Angiogenese wird durch einen natürlichen Stimulus ausgelöst. Primärer Auslöser der endothelialen Migration ist ein Protein, welches in vaskularisierendem Gewebe verstärkt exprimiert wird. Die Substanzen werden dem Kulturmedium kurz vor der Angiogenese –Induktion zugesetzt.

Die Konzentration für die antiangiogenetische Wirkung von D-24851 liegt deutlich unterhalb der Konzentration für die zytotoxische Aktivität. Es ist dadurch möglich die beiden Wirkqualitäten (zytotoxische Aktivität und antiangiogenetische Wirkung) von einander zu trennen.

Ohne mit der nach folgenden Angabe den Umfang der Erfindung einzuschränken zu wollen ist zu sagen, daß Dosierungen ab etwa 20 mg bis zu 500 mg täglich oral möglich sind.

Bei intravenöser Gabe als Injektion oder als Infusion können bis zu 250 mg/Tag oder mehr je nach Körpergewicht des Patienten und individueller Verträglichkeit verabreicht werden.

Infolge der fehlenden Resistenzentwicklung und Unterdrückung der Metastasierung ist eine hohe Effektivität und breiter Einsatz der Mittel zu auch bei tumorrefraktären Patienten zu erwarten.

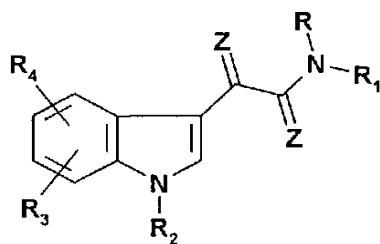
Der antiangiogenese Effekt ist geeignet die Ausbreitung des Tumors zusätzlich zu unterdrücken.

Die Erfindung umfaßt jedoch auch die Verwendung der N -substituierten Indol-3-gloxylamiden gemäß Anspruch 1 allgemeine Formel 1a bei weiteren Erkrankungen bei denen funktionell ein Angiogenese-Hemmeffekt erwünscht ist.(z.B. Wundheilung)

Ferner ist Gegenstand der Erfindung auch die fixe oder frei Kombination der N -substituierten Indol-3-gloxylamiden gemäß Anspruch 1 allgemeine Formel 1a mit an sich bekannte Antitumormitteln, sowie der Ersatz von infolge Resistenzentwicklung unwirksam gewordener Antitumormittel durch N -substituierten Indol-3-gloxylamiden gemäß Anspruch 1 allgemeine Formel 1a.

Patentansprüche

1. Verwendung von N-substituierten Indol-3-gloxylamide der allgemeinen Formel 1 als Antitumormittel nach Hauptpatentanmeldung 19 814 838.0 zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem
- 5 Karcinom, sowie als Angiogenesehemmer, bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringerer Neurotoxizität

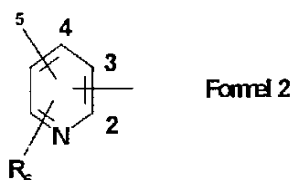
Formel 1

- 10 wobei die Reste R, R₁, R₂, R₃, R₄ und Z folgende Bedeutung haben:

- R Wasserstoff, (C₁-C₆)-Alkyl, wobei die Alkylgruppe ein- oder mehrfach durch den Phenylring substituiert sein kann und dieser Phenylring seinerseits ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, durch
- 15 Carboxylgruppen, mit C₁-C₆-Alkanolen veresterte Carboxylgruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Methoxygruppen, Ethoxygruppen, Benzyloxygruppen sowie durch eine im Phenylteil ein- oder mehrfach mit (C₁-C₆)-Alkylgruppen, Halogenatomen oder Trifluormethylgruppen substituierte Benzylgruppe substituiert sein kann,
- 20 R steht ferner für die Benzyloxycarbonyl-Gruppe (Z-Gruppe) und für den tertiär-Butoxycarbonylrest (Boc-Rest), weiterhin für die Acetylgruppe.
- R₁ kann den Phenylring, der ein- oder mehrfach mit (C₁-C₆)-Alkyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Cyano, Halogen, Trifluormethyl, Hydroxy, Benzyloxy, Nitro, Amino,
- 25 (C₁-C₆)-

Alkylamino, (C₁-C₆)-Alkoxy-carbonylamino und mit der Carboxylgruppe bzw. mit der mit C₁-C₆-Alkanolen veresterten Carboxylgruppe substituiert ist, oder ein Pyridin-Gerüst der Formel 2 und deren N-Oxid

5



10

bedeuten und dessen N-Oxid, wobei das Pyridin-Gerüst wahlweise an den Ringkohlenstoff Atomen 2, 3 und 4 gebunden ist und mit den Substituenten R₅ und R₆ substituiert sein kann. Die Reste R₅ und R₆ können gleich oder verschieden sein und die Bedeutung (C₁-C₆)-Alkyl sowie die Bedeutung (C₃-C₇)-Cycloalkyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Nitro, Amino, Hydroxy, Halogen und Trifluormethyl besitzen und ferner den Ethoxycarbonylamino-Rest sowie die Gruppe Carboxyalkyloxy darstellen, bei dem die Alkylgruppe über 1-4 C-Atome verfügen kann.

15

R₁ kann ferner ein 2-bzw. 4-Pyrimidinyl-Heterocyclus sein, wobei der 2-Pyrimidinyl-Ring ein- oder mehrfach mit der Methylgruppe substituiert sein kann, weiterhin das mit (C₁-C₆)-Alkyl, Halogen, der Nitrogruppe, der Aminogruppe und dem (C₁-C₆)-Alkyl-amino-Rest substituierte 2-,3-, und 4- und 8-Chinolylderüst bedeuten, eine 2-,3- und 4-Chinolylmethylgruppe darstellen, wobei die Ringkohlenstoffe des Pyridylmethylrestes der Chinolylderüstgruppe und des Chinolylmethyl-Restes mit (C₁-C₆)-Alkyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Nitro, Amino und (C₁-C₆)-Alkoxy-carbonylamino substituiert sein können.

20

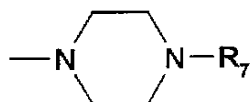
25

R₁ kann weiterhin für den Fall, daß R = Wasserstoff, die Methyl -oder Benzylgruppe sowie den Benzyloxycarbonyl-Rest (Z-Rest), den tert.-Butoxycarbonyl-Rest (BOC-Rest) und die Acetylgruppe darstellt, die folgenden Reste bedeuten:

5 -CH₂COOH; -CH(CH₃)-COOH; -(CH₃)₂-CH-(CH₂)₂-CH-COO-; H₃C-H₂C-CH(CH₃)-CH(COOH)-; HO-H₂C-CH(COOH)-; Phenyl-CH₂-CH(COOH)-; (4-Imidazolyl)-CH₂-CH-(COOH)-; HN=C(NH₂)-NH-(CH₂)₃-CH(COOH)-; H₂N-(CH₂)₄-CH(COOH)-; H₂N-CO-CH₂-CH-(COOH)-; HOOC-(CH₂)₂-CH(COOH)-;

10 R₁ kann weiterhin für den Fall, daß R Wasserstoff, die Z-Gruppe, den BOC-Rest, die Acetyl- oder die Benzylgruppe bedeuten, der Säurerest einer natürlichen oder unnatürlichen Aminosäure sein, z.B. den α-Glycyl-, den α-Sarkosyl-, den α-Alanyl-, den α-Leucyl-, den α-iso-Leucyl-, den α-Seryl-, den α-Phenylalanyl-, den α-Histidyl-, den α-Prolyl-, den α-Arginyl-, den α-Lysyl-, den α-Asparagyl- und den α-Glutamyl-Rest darstellen, wobei die
15 Aminogruppen der jeweiligen Aminosäuren ungeschützt vorliegen oder geschützt sein können. Als Schutzgruppe der Aminofunktion kommen der Carbobenzoxy-Rest (Z-Rest) und der tert.-Butoxycarbonyl-Rest (BOC-Rest) sowie die Acetylgruppe in Frage. Im Fall des für R₁ beanspruchten Asparagyl- und Glutamylrestes liegt die zweite, nicht gebundene
20 Carboxylgruppe als freie Carboxylgruppe oder in Form eines Esters mit C₁ - C₆-Alkanolen, z.B. als Methyl-, Ethyl- bzw. als tert.- Butylester vor.
Weiterhin kann R₁ die Allylaminocarbonyl-2-methyl-prop-1-yl-Gruppe bedeuten.

25 R und R₁ können ferner zusammen mit dem Stickstoff-Atom, an das sie gebunden sind, einen Piperazinring der Formel 3 oder einen Homopiperazinring bilden, sofern R₁ eine Aminoalkylengruppe darstellt, bei dem



Formel 3

R₇ einen Alkylrest darstellt, einen Phenylring bedeutet, der ein- oder mehrfach mit (C₁-C₆)-Alkyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Halogen, der Nitrogruppe, der Aminofunktion und mit der (C₁-C₆)-Alkylaminogruppe substituiert sein kann. R₇ bedeutet ferner die Benzhydryl-Gruppe und die Bis-p-fluorbenzylhydriyl-Gruppe.

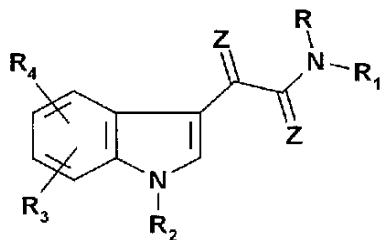
R₂ kann Wasserstoff und die (C₁-C₆)-Alkyl-Gruppe bedeuten, wobei die Alkylgruppe ein- oder mehrfach durch Halogen und Phenyl substituiert ist, das seinerseits ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, Carboxylgruppen mit C₁-C₆-Alkanolen veresterten Carboxylgruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Methoxygruppen, Ethoxygruppen oder Benzyloxygruppen substituiert sein kann. Die für R₂ geltende (C₁-C₆)-Alkyl-Gruppe kann ferner durch die 2-Chinolygruppe und das 2-,3- und 4-Pyridyl-Gerüst substituiert sein, die beide jeweils ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₄)-Alkylgruppen oder (C₁-C₄)-Alkoxy-gruppen substituiert sein können. R₂ steht ferner für den Aryl-Rest, wobei der diesem Rest zugrunde liegende Arylteil den Phenylring darstellt, der ein- oder mehrfach durch Halogen, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, Carboxylgruppen mit C₁-C₆-Alkanolen veresterte Carboxylgruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Methoxygruppen, Ethoxygruppen oder Benzyloxygruppen substituiert sein kann.

R₃ und R₄ können gleich oder verschieden sein und Wasserstoff, (C₁-C₆)-Alkyl, (C₃-C₇)-Cycloalkyl, (C₁-C₆)-Alkanoyl, (C₁-C₆)-Alkoxy, Halogen und Benzyloxy bedeuten. Weiterhin können R₃ und R₄ die Nitrogruppe, die Aminogruppe, die (C₁-C₄)-mono- oder dialkylsubstituierte Aminogruppe, und die (C₁-C₆)-Alkoxy-carbonylamino-Funktion oder (C₁-C₆)-Alkoxycarbonylamino-(C₁-C₆)-alkyl-Funktion bedeuten.

Z steht für O und S

5

2. Verwendung von N-substituierten Indol-3-gloxylamiden gemäß Anspruch 1
allgemeine Formel 1a zur Tumorbehandlung insbesondere bei
Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom, sowie als
Angiogenesehemmer bei geringeren Nebenwirkungen, insbesondere deutlich
10 geringerer Neurotoxizität



15

Formel 1 a

wobei die Reste

R = Wasserstoff

20 R₁ = 4-Pyridyl, 4-Fluorophenyl

R₂ = Benzyl, 4-Chlorbenzyl, 4-Fluorbenzyl, 3-Pyridylmethyl, 4-Brombenzyl

R₃ und R₄ = Wasserstoff und

Z Sauerstoff bedeuten.

25 3. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Tumorbehandlung insbesondere bei
Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom, sowie als
Angiogenesehemmer bei geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich
geringerer Neurotoxizität gekennzeichnet, durch einen Gehalt an mindestens einer

der Verbindungen der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a ggf. auch sie als Säureadditionssalze, beispielsweise als Salze von Mineralsäuren, wie Salzsäure,

Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salze von organischen Säuren, wie beispielsweise
 5 Essigsäure, Milchsäure, Malonsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Gluconsäure, Glucuronsäure, Zitronensäure, Embonsäure, Methansulfonsäure, Trifluoressigsäure, Bernsteinsäure und 2-Hydroxyethansulfonsäure sowie möglich, deren N-Oxide.

10

4. Verwendung von N -substituierten Indol-3-glyoxylamiden der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a sowie deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalzen zur Herstellung von Antitumormitteln zur Verwendung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom, sowie als
 15 Angiogenesehemmer bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringerer Neurotoxizität und zwar insbesondere der folgenden Verbindungen bzw. deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren bzw. sofern möglich deren N-Oxiden:

- | | | |
|----|----------|---|
| 20 | D 24241 | N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid |
| | D 24843 | N-(Pyridin-4-yl)-(1-benzylindol-3-yl)-glyoxylamid |
| | D 24850 | N-(4-Fluorphenyl)-[1-(3-pyridylmethyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid |
| | D 24851 | N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-chlorbenzyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid |
| | D -25505 | N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid HCL |

25

5. Antitumormittel enthaltend als aktiven Wirkstoff ein oder mehrere N -substituierte Indol-3-glyoxylamide gemäß der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a sowie ggf. deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalze Antitumormitteln zur Verwendung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom, sowie
 30 als Angiogenesehemmer bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringerer Neurotoxizität insbesondere jedoch eine oder mehrere Verbindungen gemäß Anspruch 4 .

6. Antitumormittel zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom, sowie als Angiogenesehemmer bei geringeren

Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringere Neurotoxizität und zwar
5 insbesondere enthaltend als aktiven Wirkstoff

D 24241 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid bzw. dessen Hydrochlorid

7. Antitumormittel zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz
10 und metastatisierendem Karzinom sowie als Angiogenesehemmer bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringere Neurotoxizität und zwar insbesondere enthaltend als aktiven Wirkstoff

D 24843 N-(Pyridin-4-yl)-(1-benzylindol-3-yl)-glyoxylamid

8. . Antitumormittel zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom sowie als Angiogenesehemmer bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringere Neurotoxizität und
15 zwar insbesondere enthaltend als aktiven Wirkstoff

D 24850 N-(4-Fluorphenyl)-[1-(3-pyridylmethyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

9. . Antitumormittel zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom sowie als Angiogenesehemmer bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringere Neurotoxizität und
20 zwar insbesondere enthaltend als aktiven Wirkstoff

25 D 24851 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-chlorbenzyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

10. Antitumormittel zur Tumorbehandlung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und metastatisierendem Karzinom sowie als Angiogenesehemmer bei deutlich geringeren Nebenwirkungen insbesondere deutlich geringere Neurotoxizität
30 enthaltend als aktiven Wirkstoff ein oder mehrere N -substituierte Indol-3-gloxylamide gemäß der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a sowie ggf. deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalze und, sofern möglich, N-Oxide, insbesondere jedoch eine oder mehrere Verbindungen gemäß Anspruch 4 sowie 6

bis 8 und einen pharmazeutisch verwendbaren Träger- und/oder Verdünnungs- bzw. Hilfsstoff in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Lösungen zur Infusion oder Ampullen,

Suppositorien, Pflaster, inhalativ einsetzbaren Pulverzubereitungen,

5 Suspensionen, Cremes und Salben.

11. Verwendung von N -substituierten Indol-3-glyoxylamiden der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a sowie deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalzen als Angiogenesehemmstoffe und zwar insbesondere der folgenden Verbindungen
 10 bzw. deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren bzw. sofern möglich deren N-Oxiden:

D 24241 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid

D 24843 N-(Pyridin-4-yl)-(1-benzylindol-3-yl)-glyoxylamid

15 D 24850 N-(4-Fluorphenyl)-[1-(3-pyridylmethyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

D 24851 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-chlorbenzyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

D -25505 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid HCL

12. Verwendung von N -substituierten Indol-3-glyoxylamiden der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a sowie deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalzen zur Verwendung insbesondere bei Arzneimittelresistenz und als Ersatz für aufgrund der Resistenzbildung nicht mehr wirksamer Antitumormittel insbesondere der Verbindungen

D 24241 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid

25 D 24843 N-(Pyridin-4-yl)-(1-benzylindol-3-yl)-glyoxylamid

D 24850 N-(4-Fluorphenyl)-[1-(3-pyridylmethyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

D 24851 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-chlorbenzyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

D -25505 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid HCL

30 13. Verwendung von N -substituierten Indol-3-glyoxylamiden der allgemeinen Formel 1 bzw. 1a sowie deren physiologisch verträglichen Säureadditionssalzen zur Verwendung insbesondere bei Arzneimittelresistenz in fixer oder freier Kombination

mit bekannten Antitumormitteln und als Ersatz für aufgrund der Resistenzbildung nicht mehr wirksamer Antitumormittel insbesondere der Verbindungen

5

D 24241 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid

D 24843 N-(Pyridin-4-yl)-(1-benzylindol-3-yl)-glyoxylamid

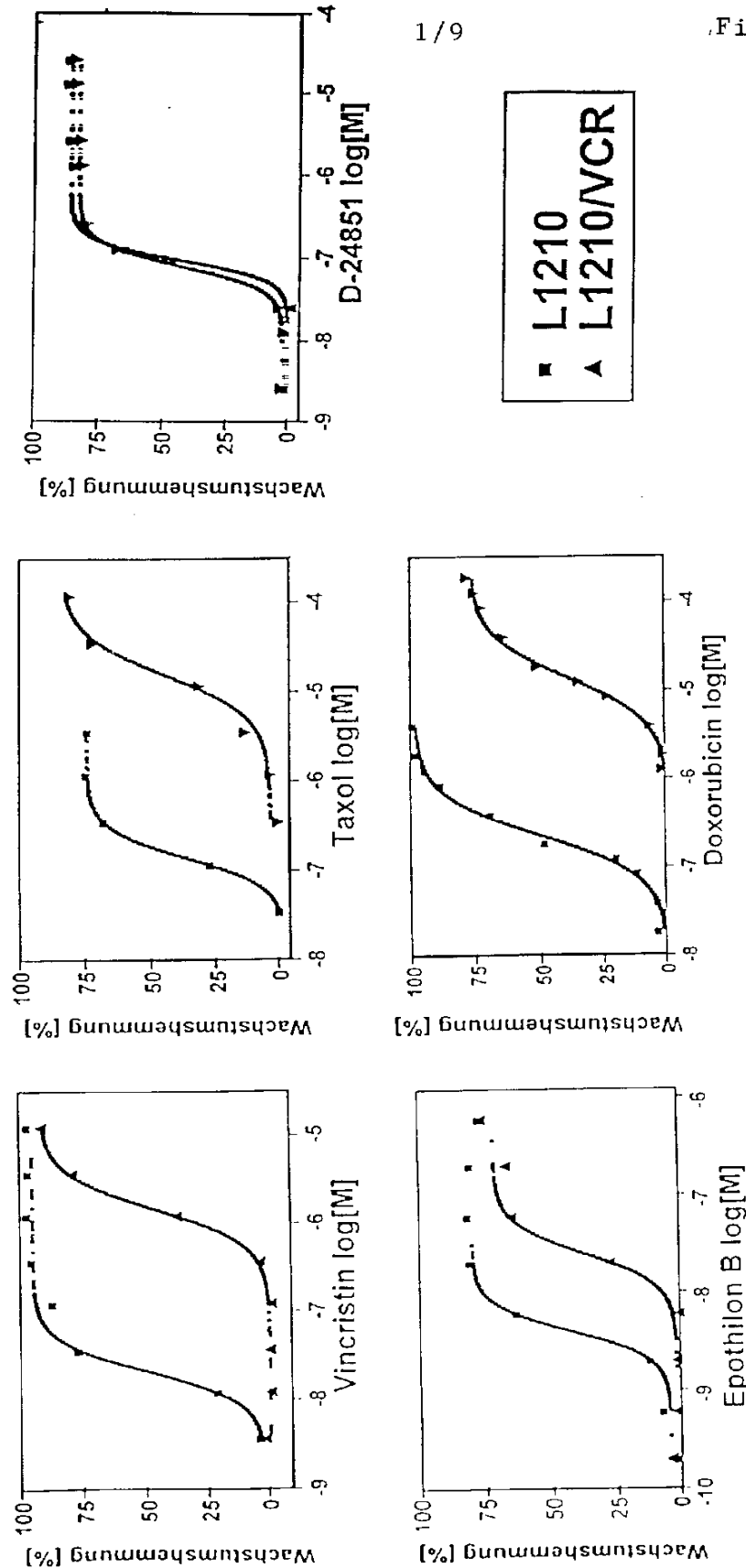
D 24850 N-(4-Fluorphenyl)-[1-(3-pyridylmethyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

D 24851 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-chlorbenzyl)-indol-3-yl]-glyoxylamid

10 D -25505 N-(Pyridin-4-yl)-[1-(4-fluorbenzyl)-indol-3-yl] glyoxylamid HCL

15

Zytotoxische Wirkung von D-24851 gegen MDR murine leukemic subline L1210/ VCR



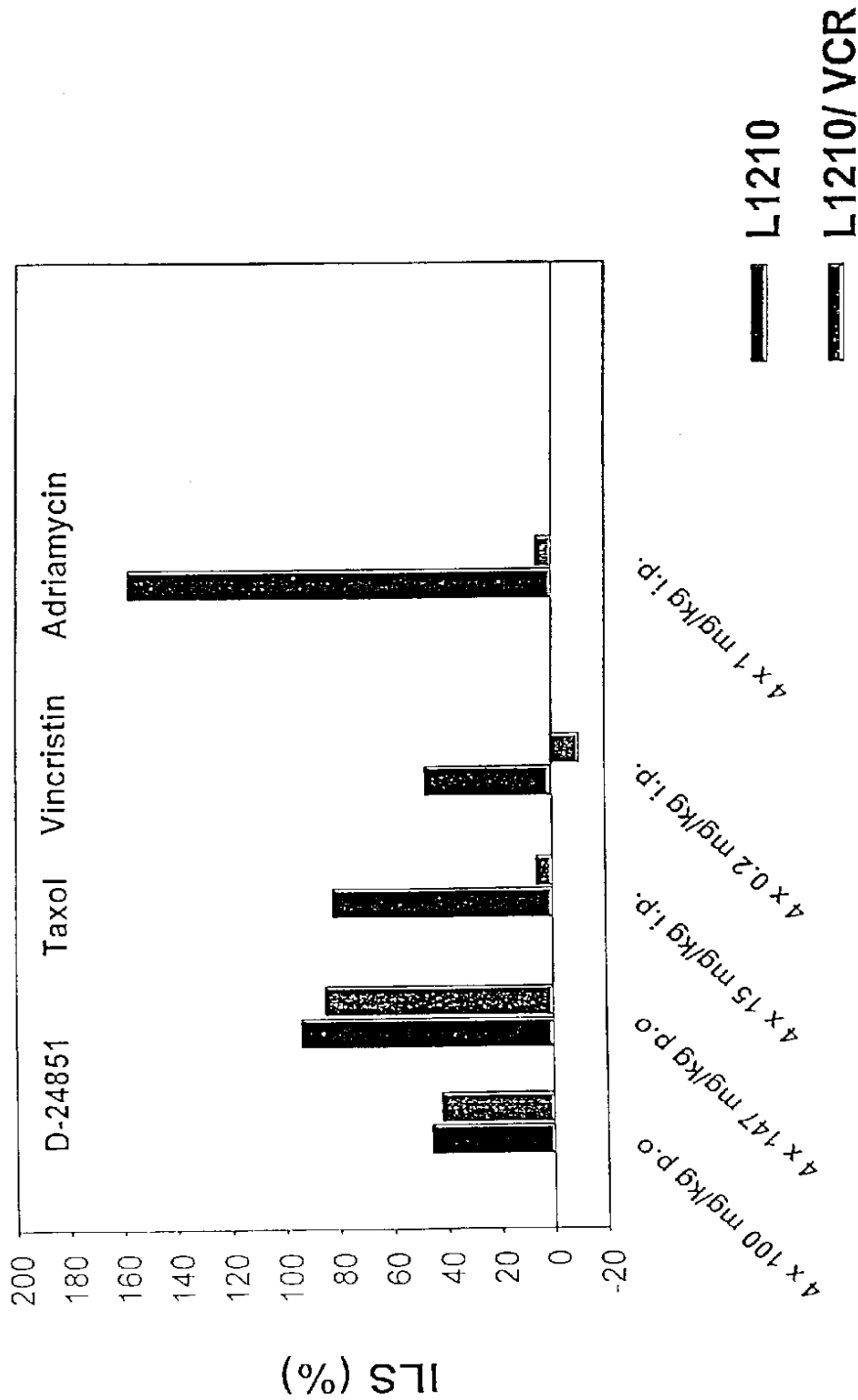
1/9

Figur 1

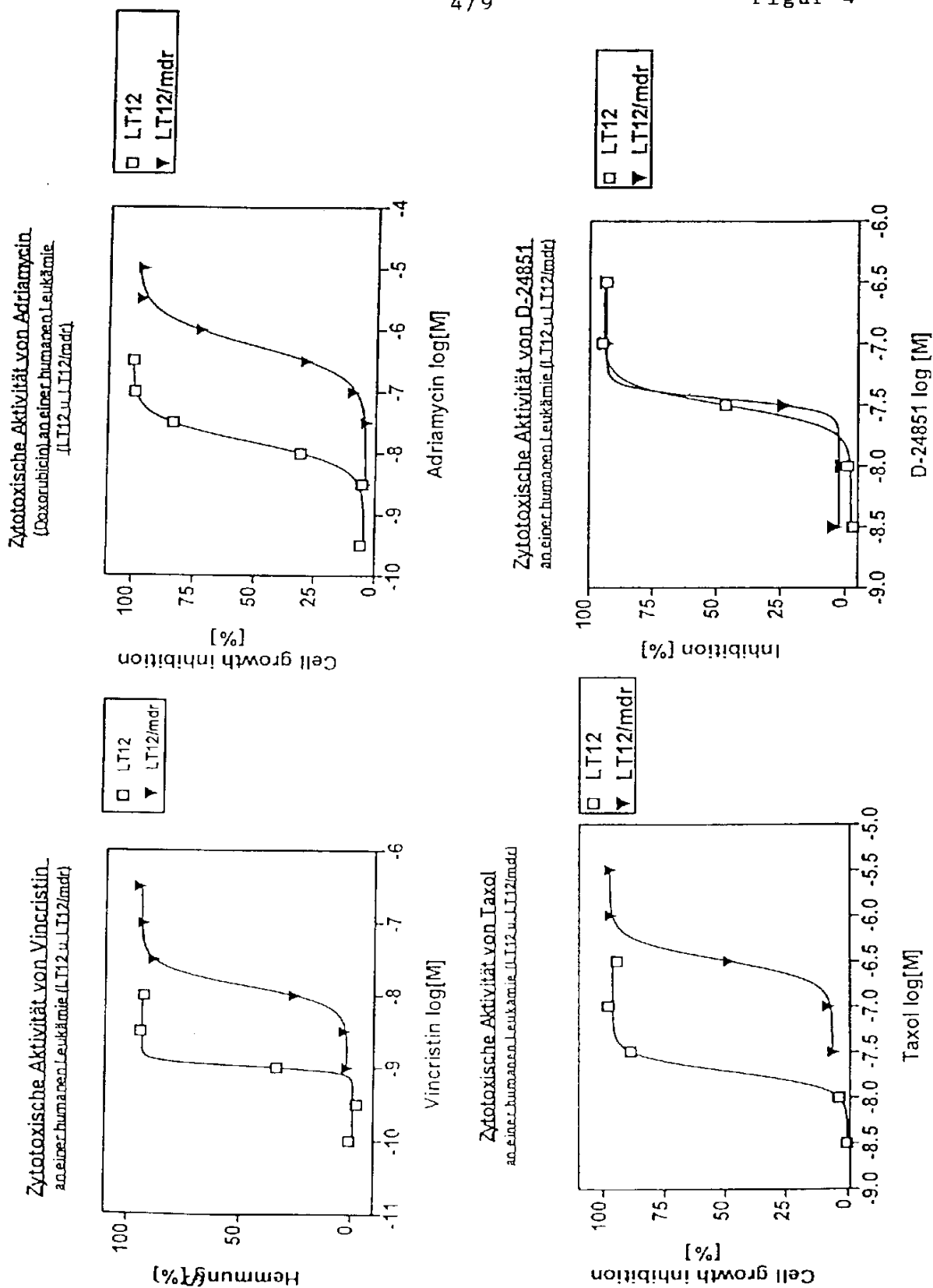
©D-24851 hat im Gegensatz zu Taxol, Doxorubicin, Vincristin bzw. Epothilone B. die selbe zytotoxische Aktivität gegenüber der MDR mouse leukemic subline L1210/VCR wie gegenüber der normalen L1210

Figur 2

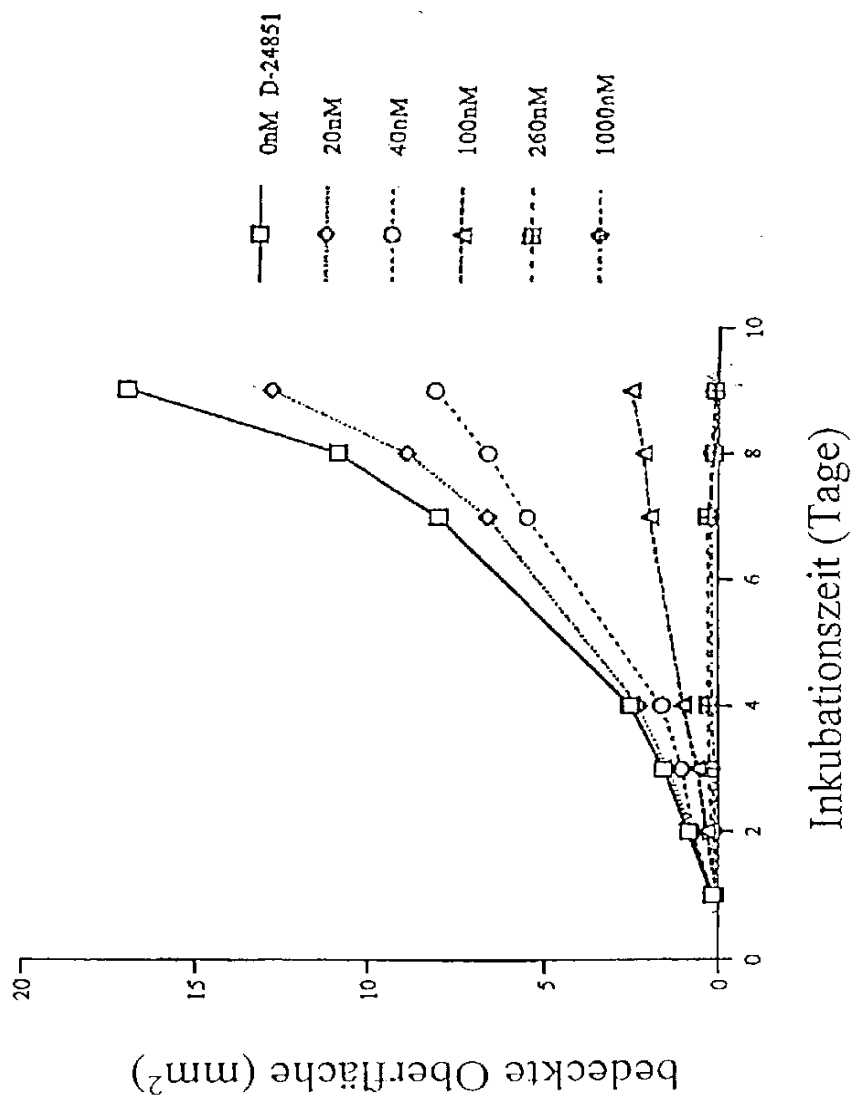
Wirkung von D-24851 auf einen multidrug
resistenten Tumor



| Einfluß von D-24851 auf die multidrug resistente murine leukemia L1210 (Dosis 10% der LD ₅₀) | | | | |
|--|--------------|-----------------|-------|--|
| | Dose (mg/kg) | L1210 L1210/VCR | | |
| | | ILS % | ILS % | |
| D-24851 | 4 x 100 p.o. | 46 | 42 | |
| | 4 x 147 p.o. | 94 | 85 | |
| Adriamycin | 4 x 1 i.p. | 158 | 6 | |
| Taxol | 4 x 15 i.p. | 82 | 6 | |
| Vincristin | 4 x 0.2 i.p. | 47 | -11 | |



Hemmung der Migration von MO4 Zellen durch D-24851



© D-24851 hemmt dosisabhängig die Migration von MO4 Zellen
 Daraus läßt sich für D-24851 eine antinvasive und eine
 antimetastatische Wirkung ableiten.

Neurotoxicity

6/9

| | D-24851 10x 20 mg/kg p.o | Vincristin 10x 0.2 mg/kg i.p. | Taxol 10x 15 mg/kg i.p. |
|------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| Ataxie (Ratte) | -- | + | ++ |
| Traktion (Ratte) | -- | + | ++ |
| Reaktion (Ratte) | -- | ++ | +++ |

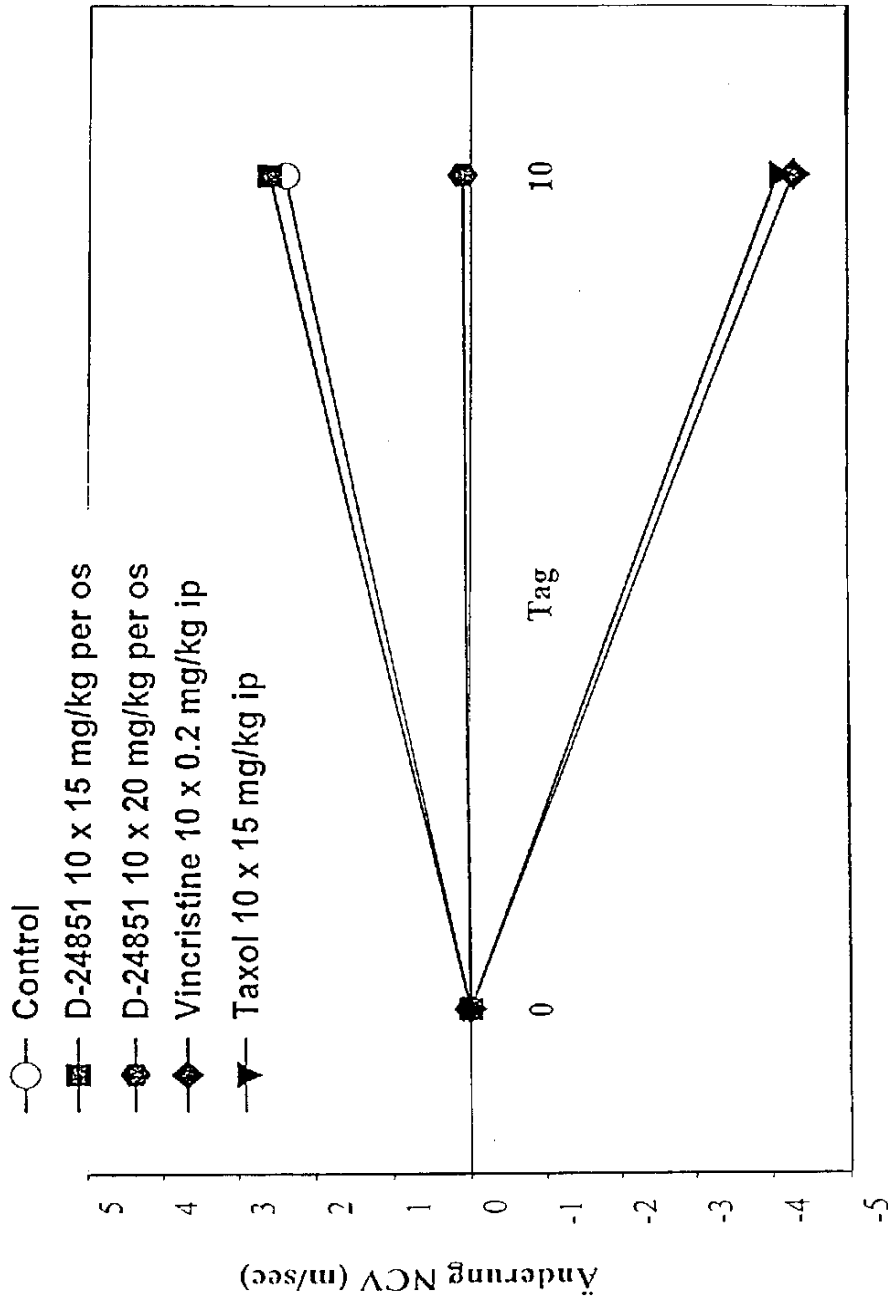
+ $p \geq 0.05$ vs. Kontrolle ++ $p \geq 0.01$ vs. Kontrolle -- = kein Effekt

Figur 6

© D-24851 zeigt in maximal antitumor wirksamen Dosen im Gegensatz zu Taxol und Vincristin keine Neurotoxicity

Figur 7

Einfluß von D-24851 auf die Nervenleitungs-
geschwindigkeit (NCV) (Ratte)



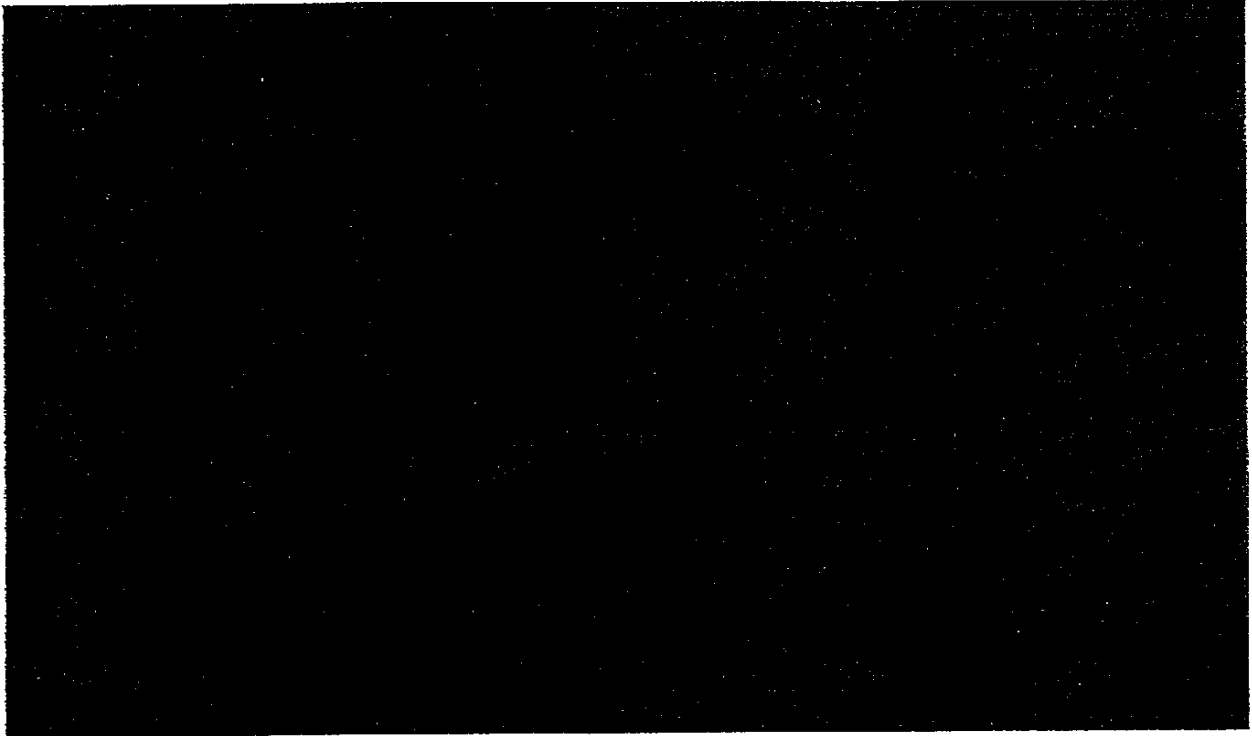
Angiogenese in humaner Endothelzellkultur

Vitalfärbung, 44 Stunden nach Induktion der Angiogenese

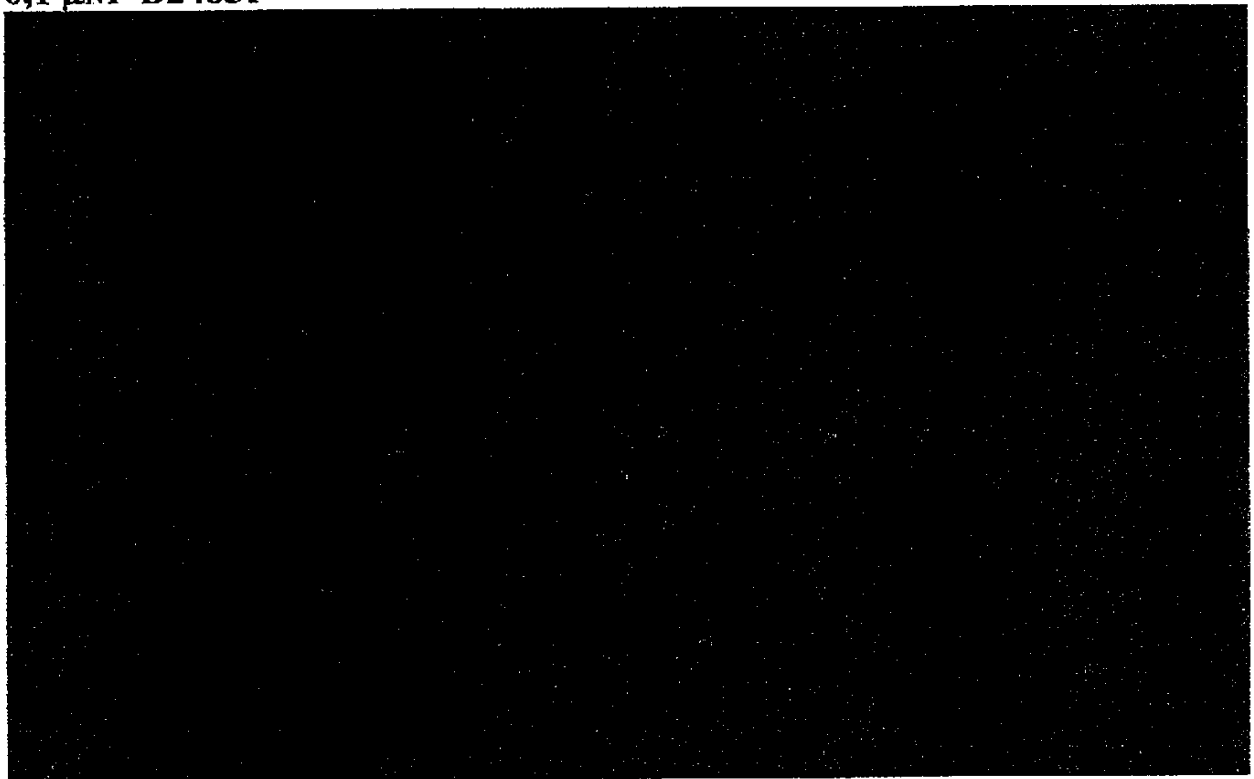
8/9

Figur 8

DMSO -Kontrolle



0,1 μ M D24851



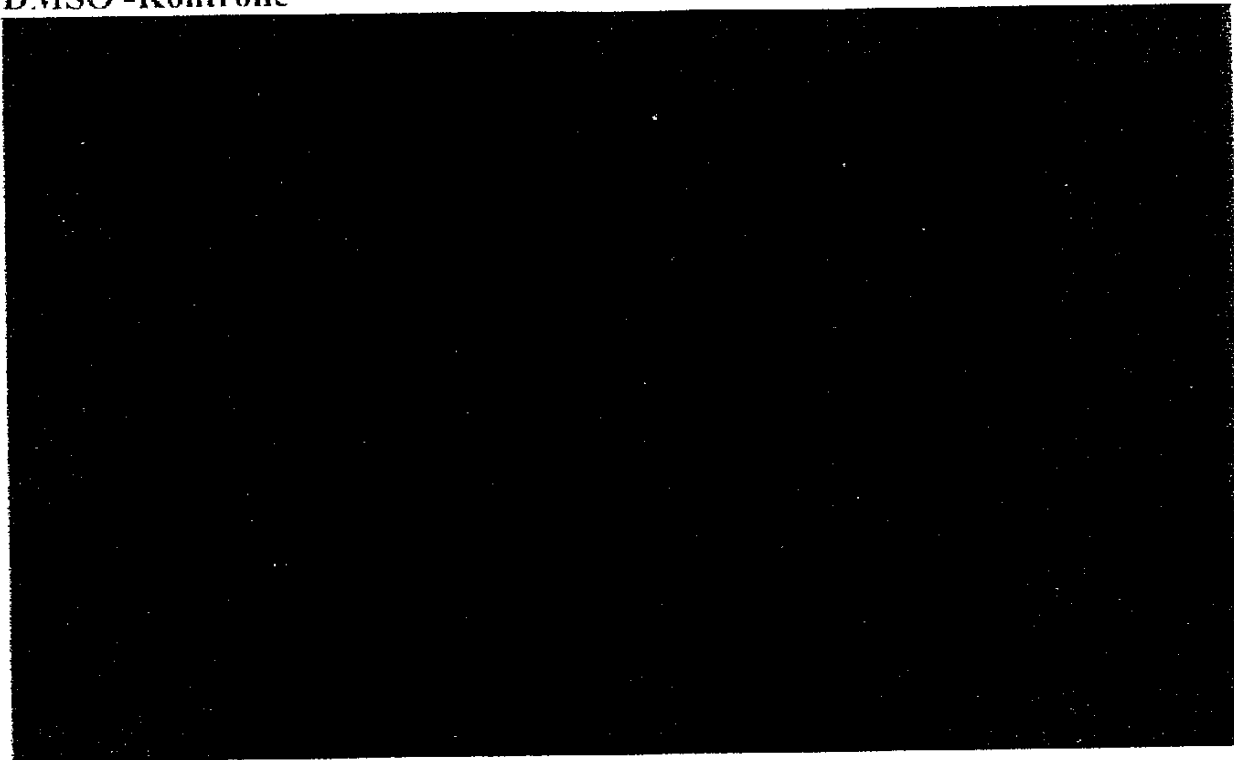
Angiogenese in humaner Endothelzellkultur

Letalfärbung, 22 Stunden nach Induktion der Angiogenese

9/9

Figur 9

DMSO -Kontrolle



0,1 μ M D24851

